

## 顎口腔領域化膿性感染症の臨床細菌学的検討

金沢大学医学部歯科口腔外科学講座 (主任: 山本悦秀教授)

齋 木 康 正

顎口腔領域化膿性感染症の起炎菌を明らかにする目的で、重症度別に検出菌の検討を行い、さらに、その高頻度分離菌の膿瘍形成能について動物実験を行った。閉塞膿瘍110症例を症状の強さにより軽症型51例、中等症型35例、重症型24例に分類して検索した。総分離菌株数は437株であり、嫌気性菌は289株 (66.1%)、好気性菌は148株 (33.9%) であった。分離菌株中嫌気性菌の占める割合は、軽症型では57.1%、中等症型では70.7%、重症型では75.9%であった。嫌気性菌が関与した症例は99例 (90.0%)、嫌気性菌と好気性菌の混合感染症例は79例 (71.8%)、グラム陽性球菌とグラム陰性桿菌を同時に検出した症例は84例 (76.4%) であった。高頻度に分離された細菌は *Streptococcus* (78株)、*Prevotella* (58株)、*Fusobacterium* (54株)、*Peptostreptococcus* (49株) であり、これら4菌属で全分離菌株の54.7%占めた。また、これらの菌属はいずれの病型においても高頻度に分離された。マウスの腹腔を使用した膿瘍形成実験には、高頻度分離菌株である *Streptococcus constellatus* (*S. constellatus*)、*Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*)、*Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) を、それぞれ臨床分離菌3株、標準菌株1株、合計12菌株を供試した。単独感染では、*S. constellatus* 有荚膜株、および *F. nucleatum* は強い膿瘍形成能を示した。しかしながら、*P. intermedia* は何れの株でも膿瘍形成はみられなかった。混合感染では、*S. constellatus* の有荚膜株と *F. nucleatum* の組合せで強い相乗効果が認められた。また、*S. constellatus* と *P. intermedia* の組合せでは一部で相乗効果が確認された。しかしながら、*F. nucleatum* と *P. intermedia* の組合せでは相乗効果は認められなかった。病理組織学的には、形成された膿瘍は、中心に壊死性組織塊、その周囲を多形核白血球、さらにその周囲を線維芽細胞およびコラーゲンを多量に含む層の3層構造として観察された。以上の所見は、臨床症例から高頻度に出される細菌は、口腔常在菌であることを示している。さらに、これら高頻度検出菌は、特にグラム陽性球菌と嫌気性グラム陰性桿菌の混合感染の形態を取る時、顎口腔領域の化膿性感染症の増悪化に重要であることを示唆している。

**Key words** oral obstructive abscess, severity grade of infection, isolates, intraperitoneal inoculation, abscess formation

顎口腔領域化膿性疾患の大部分は根尖性歯周炎と慢性辺縁性歯周炎の2つに代表される歯性感染症である。その内、大学病院をはじめ病院歯科口腔外科を訪れる患者は炎症の範囲が広がり、既に全身の発熱のみならず開口、咀嚼および嚥下など、日常生活に重要な口腔の諸機能に障害を来している場合が多い。また近年の患者の高齢化により、種々の成人病を有し、抵抗力の減じた宿主すなわち易感染性宿主が増加しており、炎症が顔面や頸部などの隣接組織に波及し極めて重症になる症例も稀ながら見受けられる<sup>1)</sup>。したがって、これら患者個々の病態を出来る限り早期に把握し、それに応じた適切な消炎処置を講ずることが今後、ますます重要になるものと考えられる。中でも歯性感染症の発生から進展に至る機序を起炎菌の構成状態などから解明することは臨床、有益な理論的根拠を提供し得るものと考えられるが、この点から検討した報告は少なく<sup>2)</sup>、なお不明な点が少ない<sup>3)</sup>。

そこで本研究では、感染症の臨床的重症度と化膿菌の菌の構

成の相関を検討する目的で、各症例毎の閉塞膿瘍から菌を分離同定し、検出された菌の種類を臨床症状との関連性から検索した。さらに臨床材料から高頻度に分離された菌種については、起炎菌としての病原性の強さを検討する目的で、単独による膿瘍形成能および各菌種の組合せによる相乗作用の有無についてマウス腹腔を用いて実験をおこなった。

### 対象および方法

#### I. 顎口腔領域閉塞膿瘍からの菌分離

##### 1. 対象

1991年7月から1993年12月までの30か月間に金沢大学医学部附属病院歯科口腔外科を受診した外来または入院患者のうち、顎口腔領域に閉塞膿瘍が認められた110名 (男性、59名; 女性、51名) を対象とした。対象患者の平均年齢は42.1歳 (7~78歳) であった。対象症例の内訳は、根尖性歯周炎によるものが44例、辺縁性歯周炎によるものが15例、歯根嚢胞の2次感染症例

平成6年9月2日受付、平成6年9月13日受理

Abbreviations: CFU, colony forming unit; *F. nucleatum*, *Fusobacterium nucleatum*; *P. intermedia*, *Prevotella intermedia*; *S. anginosus*, *Streptococcus anginosus*; *S. constellatus*, *Streptococcus constellatus*; *S. intermedius*, *Streptococcus intermedius*; *S. milleri*, *Streptococcus milleri*

19例, その他の顎嚢胞の2次感染28例, 歯冠周囲炎2例, 原因不明の頬部膿瘍2例であった(表1)。なお, 歯根嚢胞については, レントゲン所見において原因歯の根尖部に歯根膜線から移行した円形で辺縁の明瞭な単房性の透過像を示すものとして根尖性歯周炎と区別した。

## 2. 炎症の重症度分類

石川ら<sup>4)</sup>とBhaskar<sup>5)</sup>の炎症の臨床像および歯科・口腔外科領域における抗生物質の効果判定基準<sup>6)</sup>を参考に, 決定因子を出来る限り少なくして簡便になるよう, 一般に炎症の5徴候と言われている疼痛, 腫脹, 発赤, 熱感, 機能障害をもとに炎症の強さを点数化し, 1~3点, 4~5点, 6~10点を示す場合各々軽症型, 中等症型, 重症型とした(表2)。

## 3. 膿瘍内容液採取法

膿瘍周囲をポビドンヨードにて消毒後, 2%塩酸リドカイン(1/80,000 エピレナミン含有)を用いて浸潤麻酔を行った。滅菌ロールワッテで防湿を行った後, 内容液を18ゲージ針付き注射器で穿刺吸引した。検体は速やかにケンキポーター<sup>®</sup>(クリニカル・サプライ, 岐阜)に注入して, 当科研究室に搬送した。

## 4. 菌の分離・培養法

被験材料を直接培地に塗抹することにより菌分離を行った。

嫌気培養には非選択培地としてブルセラ HK 寒天培地(極東製薬工業, 東京)あるいは変法 GAM 寒天培地(ニッスイ, 東京), 嫌気性グラム陰性桿菌の選択培地として PV 加ブルセラ HK 寒天培地(極東製薬工業)を, 好気培養には5%羊血液寒天培地(ニッスイ)あるいは変法 GAM 寒天培地を使用しな。採取した膿汁1白金耳を寒天平板に塗抹して, 37℃でそれぞれ嫌気性菌は4日から7日間嫌気培養, 好気性菌は2日から3日間好気培養後, 形態, 色調, 溶血性などの性状が異なる集落を釣菌し, それぞれ変法 GAM 寒天培地を用いて純粋分離菌株を得た。嫌気培養により分離された細菌については好気培養および微好気培養を行い, 偏性嫌気性菌の確認を行った。

嫌気培養は Gas Pak<sup>®</sup>(BBL, Cockeysville, USA)あるいはアネロパック<sup>®</sup>(三菱ガス化学, 東京)を用い, 微好気培養はアネロパック・キャンピロ<sup>®</sup>(三菱ガス化学)あるいはアネロパック・CO<sub>2</sub><sup>®</sup>(三菱ガス化学)を使用した。

## 5. 分離菌株の同定法

純粋分離菌株については, Bergey のマニュアル<sup>7)</sup>および Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology<sup>8)</sup>に従い同定した。なお, 嫌気性菌に関しては Rap ID ANA II システム<sup>®</sup>(Innovative Diagnostic Systems, Inc., Atlanta, USA)を,

Table 1. Obstructive abscess cases examined

Causative disease of obstructive abscess	Total number of cases	Number of cases		
		Severity grade of infection <sup>a)</sup>		
		Mild	Moderate	Severe
Periapical periodontitis	44	9	19	16
Marginal periodontitis	15	6	6	3
Pericoronitis	2	0	1	1
Secondary infection after				
Radicular cyst	19	12	4	3
Postoperative maxillary cyst	20	17	3	0
Other cyst	8	7	1	0
Buccal abscess	2	0	1	1

a) Refer to Table 2.

Table 2. Scoring of clinical findings of obstructive abscess

Clinical finding	Score
Spontaneous pain	Fair, 0; moderate pain, 1; severe pain, 2
Percussive or oppressive pain	Fair, 0; moderate pain, 1; severe pain, 2
Swelling	No swelling, 0; within the oral limits, 1; extending swelling to facial region, 2
Redness or heat	No remarkable change, 0; remarkable change, 1
Body temperature	<37.0 °C, 0; ≥37.0 °C, <37.5 °C, 1; ≥37.5 °C, 2
Functional disturbance	No remarkable change, 0; remarkable change, 1

Scores 1-3, mild grade; scores 4-5, moderate grade; scores 6-10, severe grade.

*Streptococcus* には Rap ID STR システム<sup>®</sup> (Innovative Diagnostic Systems) を使用し、同定の補助とした。

## Ⅱ. マウス腹腔内膿瘍形成能の検討

### 1. 使用動物

ICR 系の Crj: CD-1 マウス (雌, 5~7 週齢, 体重 21~26g) (日本チャールズリバー, 横浜) を用いた。マウスは 1 ケージに 5 匹入れ, 実験動物用固形飼料 MF (オリエンタル酵母工業, 東京) を給餌し, 水道水を自由摂取させて飼育した。

### 2. 使用菌株

標準菌株として塩野義製薬株式会社研究開発推進部から分与された *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) ATCC-

25586, *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) ATCC25611, *Streptococcus constellatus* (*S. constellatus*) ATCC27823 を用いた。また, 当科臨床分離菌株で同一検体の組合せとして, 急性根尖性歯周炎の一検体から分離した *S. constellatus* 75RS1, *P. intermedia* 75PV1, *F. nucleatum* 75PV5, 別症例の急性根尖性歯周炎検体から分離した *S. constellatus* 86RS2, *F. nucleatum* 86PV2, 急性辺縁性歯周炎の一検体から分離した *S. constellatus* 90RS1, *F. nucleatum* 90PV1, さらにそれぞれ別々の急性根尖性歯周炎検体から分離した *P. intermedia* 76PV3, 106PV1, の合計12株を使用した (表3)。これらの株は使用時まで滅菌スキムミルクに懸濁して, -70℃で凍結保存し

Table 3. Strains used in infection experiments

Strain <sup>a)</sup>	Source
Reference strain	
<i>S. constellatus</i> ATCC 27823	Purulent pleurisy
<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586	Unknown
<i>P. intermedia</i> ATCC 25611	Unknown
Clinical isolate	
<i>S. constellatus</i> 75RS1 <sup>b)</sup>	Acute periapical periodontitis
<i>S. constellatus</i> 86RS2 <sup>b)</sup>	Acute periapical periodontitis
<i>S. constellatus</i> 90RS1	Acute marginal periodontitis
<i>F. nucleatum</i> 75PV5	Acute periapical periodontitis
<i>F. nucleatum</i> 86PV2	Acute periapical periodontitis
<i>F. nucleatum</i> 90PV1	Acute marginal periodontitis
<i>P. intermedia</i> 75PV3	Acute periapical periodontitis
<i>P. intermedia</i> 76PV3	Acute periapical periodontitis
<i>P. intermedia</i> 106PV1	Acute periapical periodontitis

a) *S. constellatus*, *Streptococcus constellatus*; *F. nucleatum*, *Fusobacterium nucleatum*; *P. intermedia*, *Prevotella intermedia*.

b) Capsule-positive strain.

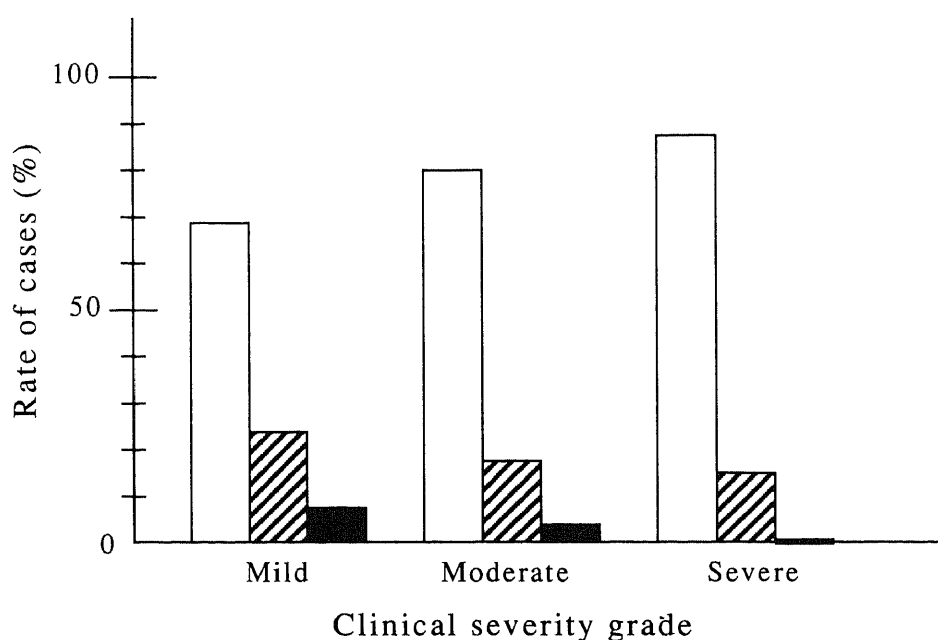


Fig. 1. Infection pattern in 110 cases of obstructive abscesses. Mild, 51 cases; moderate, 35 cases; severe, 24 cases. □, gram-positive cocci+gram-negative rods+other bacteria; ▨, gram-positive cocci+other bacteria; ■, other pattern.

た。尚、Hiss の英膜染色法による英膜染色<sup>10)</sup>では、*S. constellatus* 75RS1 と 86RS2 が明らかな陽性として認められた。

### 3. 接種菌液の作製

凍結菌液を解凍して、変法 GAM 寒天培地で48時間嫌気培養後、生じた集落を GAM ブイヨン (ニッスイ) 2ml 中に  $10^9 \sim 10^{11}$  コロニー形成単位 (colony forming unit, CFU)/ml になるように懸濁し、菌液を作製した。その原液あるいは10倍段階希釈液の 0.2ml をマウス腹腔内に接種した。混合接種の場合は各々 0.1ml ずつ合計 0.2ml を接種した。接種菌量は、接種後直ちに定量培養法を行って算定した。混合菌株の組合せは *F. nucleatum* と *S. constellatus* では4組とし、標準菌株間の組合せを1組、他の3組は同一症例からの分離株とした。*P. intermedia* との混合感染は、特に組合せを限定せず供試した。なお、対照として菌未混入の GAM ブイヨン 0.2ml をマウス腹腔内に接種した。

### 4. 腹腔内膿瘍の検索

菌接種後7日目に致死させ、腹腔内膿瘍を検索した。検索方法は田中ら<sup>11)</sup>の方法に従い行った。すなわち、マウスをジエチ

ルエーテルで麻酔して致死させ、背位保定して腹腔内を露出した。膿瘍形成が認められた場合には、その形成部位、長径および短径、肉眼的所見を記録後に摘出し、膿瘍内容物の直接塗抹標本の作製、内容物からの菌の回収、膿瘍の組織標本の作製に供した。膿瘍の判定は、田中ら<sup>11)</sup>、Shapiro ら<sup>12)</sup>の方法に従った。すなわち、グラム染色で多形核白血球と菌体の確認ができる膿汁を多量に含む内腔のある腫瘍で、その内容液 (膿汁) から接種菌を回収できる場合を膿瘍と判定した。ただし、1匹当りの膿瘍形成数あるいは膿瘍を形成したマウスの数が少ない場合には、内容液からの菌の回収、病理組織学的検索の順序で優先的に供した。

### 5. 膿瘍中細菌数の測定

腹腔内から無菌的に採取した膿瘍をテフロンホモジナイザーで、2ml の GAM ブイヨンと共に均一化した。これを10倍段階希釈し、膿瘍1個当りの生菌数を算定した。なお、単独菌の場合には、変法 GAM 寒天培地を用いたが、複数菌接種での測定には、*P. intermedia* および *F. nucleatum* 用には PV 加ブセラ HK 寒天培地を選択培地として使用し、*S. constellatus* の測定には変法 GAM 寒天培地を微好気培養して算定した。

Table 4. Aerobes isolated from obstructive abscesses

Organism <sup>a)</sup>	Total number (%) <sup>b)</sup> of isolates	Number (%) <sup>c)</sup> of isolates		
		Severity grade of infection		
		Mild (51) <sup>d)</sup>	Moderate (35)	Severe (24)
<i>S. constellatus</i>	46 (10.5)	19 (10.1)	13 (9.3)	14 (13.0)
<i>S. intermedius</i>	12 (2.7)	3 (1.6)	7 (5.0)	2 (1.9)
<i>S. anginosus</i>	1		1	
<i>S. mitis</i>	21 (4.8)	11 (5.8)	7 (5.0)	3 (2.8)
<i>S. sanguis</i>	8 (1.8)	7 (3.7)	1	
<i>S. oralis</i>	16 (3.7)	12 (6.3)	2 (1.4)	2 (1.9)
<i>St. aureus</i>	6 (1.4)	4 (2.1)	1	1
<i>St. epidermidis</i>	4	3 (1.6)		1
<i>St. haemolyticus</i>	1	1		
<i>Corynebacterium</i> spp.	9 (2.1)	4 (2.1)	3 (2.1)	2 (1.9)
<i>A. odontolyticus</i>	2	1	1	
<i>A. israelii</i>	1	1		
<i>N. mucosa</i>	2		1	1
<i>N. cinerea</i>	1	1		
<i>Neisseria</i> spp.	6 (1.4)	6 (3.2)		
<i>H. segnis</i>	1	1		
<i>H. paraphrophilus</i>	1	1		
<i>Haemophilus</i> sp.	1	1		
<i>Moraxella osloensis</i>	1		1	
<i>Branhamella catarrhalis</i>	1	1		
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	2 (1.1)	2 (1.4)	
<i>Eikenella corrodens</i>	2	2 (1.1)		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1		1	

a) *S. intermedius*, *Streptococcus intermedius*; *S. anginosus*, *Streptococcus anginosus*; *S. mitis*, *Streptococcus mitis*; *S. sanguis*, *Streptococcus sanguis*; *S. oralis*, *Streptococcus oralis*; *St. aureus*, *Staphylococcus aureus*; *St. epidermidis*, *Staphylococcus epidermidis*; *St. haemolyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*; *A. odontolyticus*, *Actinomyces odontolyticus*; *A. israelii*, *Actinomyces israelii*; *N. mucosa*, *Neisseria mucosa*; *N. cinerea*, *Neisseria cinerea*; *H. segnis*, *Haemophilus segnis*; *H. paraphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus*.

b) Rate of each isolate to a total isolates of aerobes and anaerobes from all 110 cases.

c) Rate of each isolate to a total isolates of aerobes and anaerobes from cases of each severity grade.

d) Number of cases examined.

## 6. 病理標本の作製

摘出した膿瘍を10%ホルマリンにて4℃, 24時間固定した。常法に従いパラフィン包埋し, 3μm のパラフィン切片を作製後, HE 染色を行った。

## Ⅲ. 統計学的検討

属性の有無の有意差検定は,  $\chi^2$  検定を行い, 必要に応じて Yates の連続補正を行った。それらは5%未満の危険率をもって有意とした。

## 成 績

## I. 顎口腔領域化膿性感染症の重症度別検出菌

## 1. 閉塞膿瘍からの菌の分離

110症例から総計437株, 好気性菌148株 (33.9%), 嫌気性菌289株 (66.1%), が分離された (表4, 5)。

軽症型51症例からは総計189株, 好気性菌81株 (42.9%), 嫌気性菌108株 (57.1%) が分離された。菌種別には *S. constellatus*, 次いで *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* が多く分離された。中等症型35症例から総計140株, 好気性菌41株 (29.3%), 嫌気性菌99株 (70.7%) が分離された。最も多く分離された菌種は *Peptostreptococcus micros* であり, 次いで *F. nucleatum*, *S. constellatus*, *P. intermedia* が多く分離された。重症型24症例からは総計108株, 好気性菌26株 (24.1%), 嫌気性菌82株 (75.9%) が分離された。最も多く分離された菌種は *S. constellatus* および *Peptostreptococcus micros* であり, 次いで *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *Gemella morbillorum* が多く分離された。

各病型における総分離菌株数に対する嫌気性菌の分離数の割合は, 重症型および中等症型において軽症型よりも有意に高い

Table 5. Anaerobes isolated from obstructive abscesses

Organism <sup>a)</sup>	Total number (%) <sup>b)</sup> of isolates	Number (%) <sup>c)</sup> of isolates		
		Severity grade of infection		
		Mild (51) <sup>d)</sup>	Moderate (35)	Severe (24)
<i>P. micros</i>	42 ( 9.6)	9 ( 4.8)	19 (13.6)	14 (13.0)
<i>P. prevotii</i>	4	2 ( 1.1)		2 ( 1.9)
<i>P. anaerobius</i>	8 ( 1.8)	4 ( 2.1)	2 ( 1.9)	2 ( 1.9)
<i>P. asaccharolyticus</i>	1		1	
<i>P. magnus</i>	1	1		
<i>Gemella morbillorum</i>	20 ( 4.6)	5 ( 2.6)	7 ( 5.0)	8 ( 7.4)
<i>Eubacterium lentum</i>	4	2 ( 1.1)	1	1
<i>Eubacterium aerofaciens</i>	2	1	1	
<i>Eubacterium</i> sp.	1			1
<i>Propionibacterium acnes</i>	6 ( 1.4)	4 ( 2.1)	2 ( 1.4)	
<i>Propionibacterium propionicus</i>	1	1		
<i>Actinomyces meyeri</i>	3	1	1	1
<i>Bifidobacterium</i> spp.	4	2 ( 1.1)	2 ( 1.4)	
<i>Lactobacillus</i> spp.	2	1	1	
<i>P. intermedia</i>	31 ( 7.1)	12 ( 6.3)	10 ( 7.1)	9 ( 8.3)
<i>P. melaninogenica</i>	11 ( 2.5)	6 ( 3.2)	2 ( 1.4)	3 ( 2.8)
<i>P. corporis</i>	9 ( 2.1)	3 ( 1.6)	4 ( 2.9)	2 ( 1.9)
<i>P. loescheii</i>	10 ( 2.3)	3 ( 1.6)	4 ( 2.9)	3 ( 2.8)
<i>P. buccae</i>	9 ( 2.1)	1	4 ( 2.9)	4 ( 3.7)
<i>P. oralis</i>	16 ( 3.7)	8 ( 4.2)	5 ( 3.6)	3 ( 2.8)
<i>P. oris</i>	7 ( 1.6)	3 ( 1.6)	2 ( 1.4)	2 ( 1.9)
<i>Bacteroides capillosus</i>	7 ( 1.6)	1	2 ( 1.4)	4 ( 3.7)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	17 ( 3.9)	6 ( 3.2)	6 ( 4.3)	5 ( 4.6)
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	1			1
<i>F. nucleatum</i>	37 ( 8.5)	14 ( 7.4)	14 (10.0)	9 ( 8.3)
<i>F. necrophorum</i>	14 ( 3.2)	9 ( 4.8)	2 ( 1.4)	3 ( 2.8)
<i>F. varium</i>	2		1	1
<i>Fusobacterium</i> spp.	6 ( 1.4)	2 ( 1.1)	3 ( 2.1)	1
<i>Campylobacter rectus</i>	3	2 ( 1.1)		1
<i>Veillonella</i> spp.	8 ( 1.8)	4 ( 2.1)	3 ( 2.1)	1
Unidentified gram-negative bacilli	2	1		1

a) *P. micros*, *Peptostreptococcus micros*; *P. prevotii*, *Peptostreptococcus prevotii*; *P. anaerobius*, *Peptostreptococcus anaerobius*; *P. asaccharolyticus*, *Peptostreptococcus asaccharolyticus*; *P. magnus*, *Peptostreptococcus magnus*; *P. melaninogenica*, *Prevotella melaninogenica*; *P. corporis*, *Prevotella corporis*; *P. loescheii*, *Prevotella loescheii*; *P. buccae*, *Prevotella buccae*; *P. oralis*, *Prevotella oralis*; *P. oris*, *Prevotella oris*; *F. necrophorum*, *Fusobacterium necrophorum*; *F. varium*, *Fusobacterium varium*.

b) Rate of each isolate to a total isolates of aerobes and anaerobes from all 110 cases.

c) Rate of each isolate to a total isolates of aerobes and anaerobes from cases of each severity grade.

d) Number of cases examined.

結果であった ( $p < 0.05$ ).

## 2. 顎口腔領域化膿性感染症の感染形態

### 1) 重症度別にみた好・嫌気性菌感染

110症例のうち好気性菌感染が11例 (10.0%), 嫌気性菌感染が20例 (18.2%), 好気性菌と嫌気性菌の混合感染が79例 (71.8%) であり, 嫌気性菌は99例 (90.0%) の症例から分離され, 1症例当り平均4.0株分離された (表6). 軽症型の感染形態は, 好気性菌感染8例 (15.7%), 嫌気性菌感染6例 (11.8%), 混合感染が37症例 (72.5%) で51症例中43例 (84.3%) から嫌気性菌が検出された. 検体からの検出菌数は平均3.7株であり, 3菌種分離例が15症例 (29.4%) と最も多かった. 中等症型は, 好気性菌感染が1症例 (2.9%), 嫌気性菌感染6症例 (17.1%), 混合感染28症例 (80.0%) であり, 35症例中34症例 (97.1%) から嫌気性菌が検出

された. 1症例当りの検出菌数は平均4.0株であり, 5菌種分離例が8症例 (22.9%) と最も多かった. 重症型は, 好気性菌感染2症例 (8.3%), 嫌気性菌感染8症例 (33.3%), 混合感染14症例 (58.3%) であり, 24症例中22症例 (91.7%) から嫌気性菌が検出された. 検体からの検出菌数は平均4.5株であり, 5菌種分離例が8症例 (33.3%) と最も多かった.

それぞれの重症度間において, 嫌気性菌の分離率に有意差は認められなかったが, 軽症型では嫌気性菌の分離率がやや低く, 好気性菌感染の割合が高値であった.

1検体当り4菌種以上分離された症例数を重症度別に比較した場合, 好気性菌感染ならびに嫌気性菌感染については有意差は認められなかった. しかしながら, 混合感染における4菌種以上分離症例数は, 軽症型では37症例中24例 (64.9%), 中等症

Table 6. Number of bacterial genera infected in obstructive abscesses

Number of bacterial genera infected	Total number of cases	Number of cases								
		Mild grade (51) <sup>a)</sup>			Moderate grade (35)			Severe grade (24)		
		Ae <sup>b)</sup>	An <sup>c)</sup>	Mi <sup>d)</sup>	Ae	An	Mi	Ae	An	Mi
1	6	3	1			1		1		
2	14	2	2	4	1	1	4			
3	26	3	3	9		1	6		4	
4	21			8		2	5	1	1	4
5	22			6		1	7		2	6
6	16			8			4		1	3
7	5			2			2			1

- a) Total number of cases.  
b) Only aerobes were isolated.  
c) Only anaerobes were isolated.  
d) Both aerobes and anaerobes were isolated.

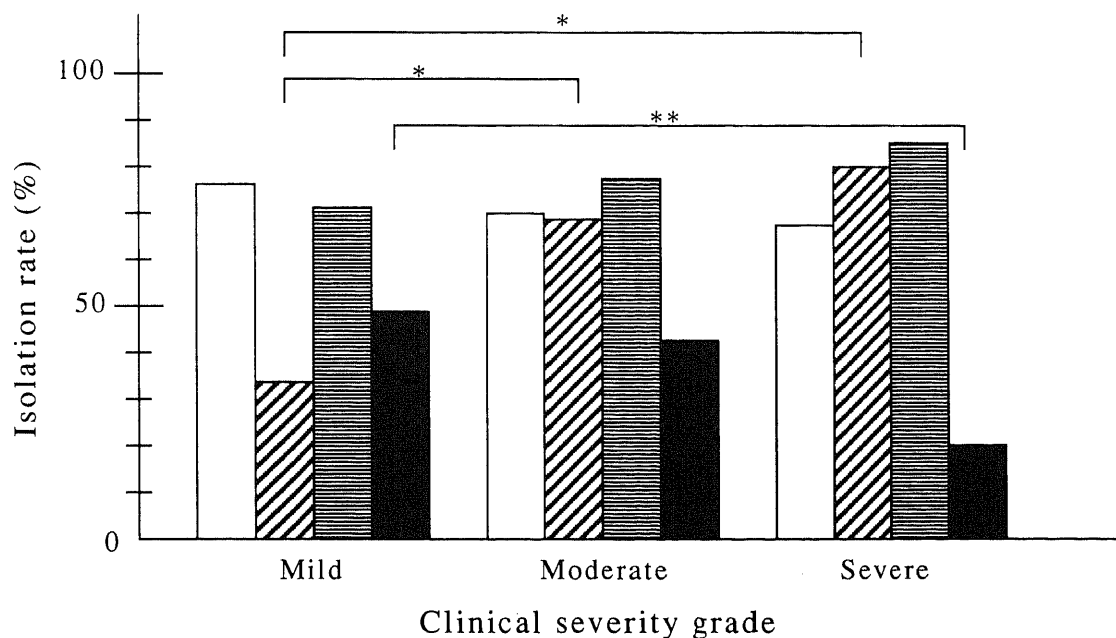


Fig. 2. Isolation rate of bacteria in 110 cases of obstructive abscesses. Mild, 51 cases; moderate, 35 cases; severe, 24 cases. □, aerobic gram-positive cocci; ▨, anaerobic gram-positive cocci; ▤, anaerobic gram-negative rods; ■, gram-positive rods, gram-negative cocci and aerobic gram-negative rods. \* $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.05$ .

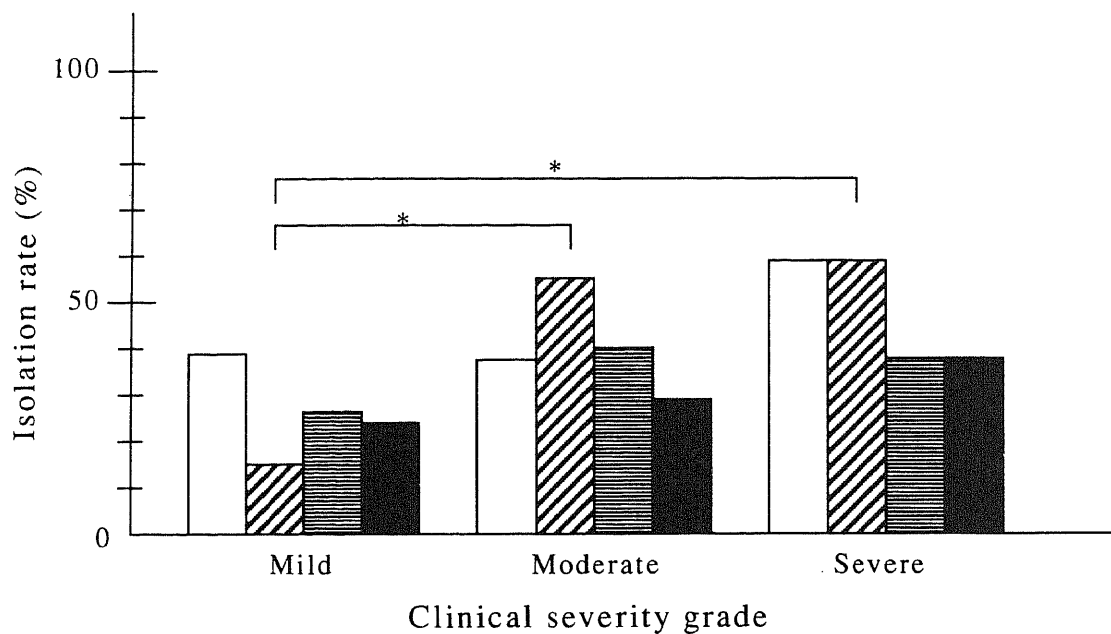


Fig. 3. Isolation rate of organisms with high isolation frequency in 110 cases of obstructive abscesses. □, *Streptococcus constellatus* (*S. constellatus*); ▨, *Peptostreptococcus micros*; ▤, *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*); ■, *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*). \* $p < 0.01$ .

Table 7. Abscess-forming ability of and viable bacterial count in abscesses caused by *F. nucleatum*

<i>F. nucleatum</i> strain	Inoculum (CFU/mouse)	Number of mice with abscesses <sup>a)</sup>	Number of abscesses per mouse	Number of viable bacteria per abscess [CFU, mean ( $\pm$ SD)]
ATCC 25586	$3.6 \times 10^9$	5	1.0	$4.3 (\pm 0.29) \times 10^6$
	$5.2 \times 10^8$	4	1.0	$3.2 (\pm 0.40) \times 10^6$
	$8.0 \times 10^7$	5	1.0	$6.0 (\pm 3.47) \times 10^4$
	$8.0 \times 10^6$	0		
	$3.0 \times 10^6$	0		
	$5.2 \times 10^5$	0		
75PV5	$1.5 \times 10^9$	5	1.2	$3.6 (\pm 1.85) \times 10^6$
	$1.0 \times 10^9$	5	1.0	$3.7 (\pm 0.70) \times 10^6$
	$5.2 \times 10^8$	5	1.0	$2.7 (\pm 1.27) \times 10^6$
	$5.2 \times 10^7$	5	1.0	$4.2 (\pm 2.29) \times 10^6$
	$5.2 \times 10^6$	0		
86PV2	$1.2 \times 10^9$	5	1.4	$2.2 (\pm 0.89) \times 10^7$
	$1.2 \times 10^8$	5	1.2	$1.0 (\pm 0.43) \times 10^7$
	$7.4 \times 10^7$	4	1.5	$1.2 (\pm 0.12) \times 10^7$
	$7.4 \times 10^6$	0		
	$7.4 \times 10^4$	0		
90PV1	$2.2 \times 10^9$	5	1.6	$3.8 (\pm 0.51) \times 10^6$
	$8.2 \times 10^8$	5	1.2	$1.2 (\pm 0.08) \times 10^6$
	$2.0 \times 10^7$	4	1.0	$4.6 (\pm 1.00) \times 10^6$
	$2.0 \times 10^6$	0		
	$8.2 \times 10^5$	0		

a) In all cases, five mice were examined.

Table 8. Abscess-forming ability of and viable bacterial count in abscesses caused by *S. constellatus*

<i>S. constellatus</i> strain	Inoculum (CFU/mouse)	Number of mice with abscesses <sup>a)</sup>	Number of abscesses per mouse	Number of viable bacteria per abscess [CFU, mean ( $\pm$ SD)]
ATCC 27823	$3.5 \times 10^{10}$	3	1.0	$3.2 (\pm 1.80) \times 10^7$
	$1.0 \times 10^{10}$	2	1.0	$2.2 \times 10^7$
	$8.0 \times 10^9$	1	1.0	$4.6 \times 10^6$
	$2.0 \times 10^8$	0		
	$3.5 \times 10^7$	0		
75RS1	$1.8 \times 10^{10}$	5	1.0	$1.8 (\pm 1.56) \times 10^7$
	$3.5 \times 10^9$	5	1.0	$1.0 (\pm 0.59) \times 10^7$
	$1.3 \times 10^8$	4	1.0	$2.4 (\pm 0.60) \times 10^7$
	$4.6 \times 10^7$	2	1.0	$1.2 \times 10^6$
	$4.6 \times 10^6$	0		
86RS2	$2.2 \times 10^{10}$	2 <sup>b)</sup>	1.5	$4.8 \times 10^8$
	$1.2 \times 10^9$	5	1.0	$3.2 (\pm 0.86) \times 10^7$
	$2.6 \times 10^8$	5	1.0	$3.6 (\pm 0.75) \times 10^7$
	$2.2 \times 10^7$	2	1.0	$4.4 \times 10^6$
	$2.6 \times 10^6$	0		
90RS1	$3.2 \times 10^{10}$	0		
	$4.9 \times 10^9$	0		
	$4.9 \times 10^8$	0		
	$4.9 \times 10^7$	0		
	$4.9 \times 10^6$	0		

a) In all cases, five mice were examined.

b) Three mice died before necropsy. Therefore, two mice were examined.



Fig. 4. Macroscopic findings of an intraabdominal abscess in a mouse 7 days after intraperitoneal inoculation of *F. nucleatum*. An abscess was shown as a yellowish soft mass (10x4 mm) on the greater curvative side of the stomach (an arrow).

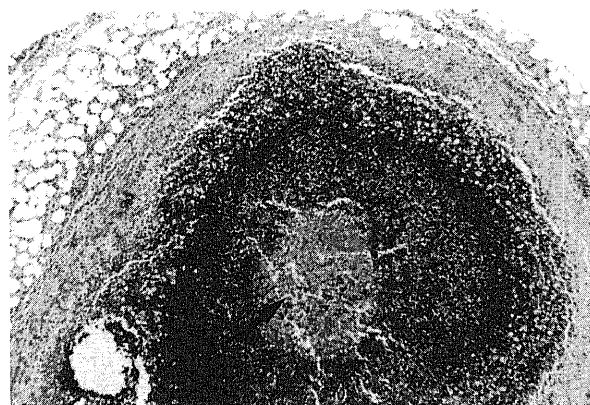


Fig. 5. Histological findings of intraabdominal abscess in mice intraperitoneally inoculated with *F. nucleatum*. An arrow indicates the core of the abscess, which consisted of necrotic debris. HE stain, x15.



型では28症例中18例 (64.3%), 重症型では全症例が4菌種以上であり, 重症型では他の病型に比べ1症例当りの分離菌種数が多いことが示された ( $p<0.05$ ).

## 2) 重症度別にみたグラム染色性による感染形態

全体では, グラム陽性球菌とグラム陰性桿菌を含む症例が多く, 84例 (76.4%) に認められた. また, グラム陽性球菌は110症例中105例 (96.0%) から検出された. 軽症型のグラム染色性による検出菌の組合せを検討したところ, グラム陽性球菌とグラム陰性桿菌を含む組合せが35症例 (68.6%) で最も多く, グラム陽性球菌の分離率は92.1%であった (図1). 中等症型はグラム陽性球菌とグラム陰性桿菌を含む組合せが35症例中28例 (80.0%) に認められ, 34例 (97.1%) からグラム陽性球菌が検出された. グラム陽性球菌が検出されなかった1例は, *F. nucleatum* 単独感染症例であった. 重症型では, グラム陽性球菌とグラム陰性桿菌を含む組合せが24症例中21例 (87.5%) で, 18例 (75.0%) はグラム陽性球菌とグラム陰性桿菌のみが検出された. また, 全ての症例からグラム陽性球菌が検出された.

いずれの病型もグラム陽性球菌とグラム陰性桿菌を含む感染形態が多く認められた. また, 統計上有意差は認められなかったが, 軽症型ではその比率はやや低く, 重症症例ほど高くなる傾向であった.

## 3. 顎口腔領域化膿性感染症の各重症度に対する各種細菌の

## 分離率

### 1) グラム染色性別分離率

好気性グラム陽性球菌の分離率は, 軽症型76.5%, 中等症型71.4%, 重症型66.9%であり, 症状が軽いほど分離率が高くなる傾向を認めた (図2). 逆に, 嫌気性グラム陽性球菌の分離率では軽症型33.3%, 中等症型68.6%, 重症型79.2%であり, 症状が強くなるほど分離率が高くなり, 軽症型と他の病型との間に有意差を認めた ( $p<0.01$ ). 同様に嫌気性グラム陰性桿菌の分離率も軽症型70.6%, 中等症型77.1%, 重症型87.5%と重症例ほど高い割合で検出されたが有意差はみられなかった. 分離率の低いグラム陽性桿菌, グラム陰性球菌および好気性グラム陰性桿菌をまとめて比較すると, 重症型 (20.8%) よりも軽症型 (49.0%) の方が様々な細菌が分離される傾向にあった ( $p<0.05$ ).

### 2) 高頻度分離菌の分離率

*Streptococcus* の分離率は軽症型72.5%, 中等症型71.4%, 重症型66.7%で, 軽症型ほど高い傾向にあったが, *Streptococcus milleri* (*S. milleri*) グループ [*Streptococcus anginosus* (*S. anginosus*), *Streptococcus intermedius* (*S. intermedius*), *S. constellatus*] の分離率は逆に, 軽症型43.1%, 中等症型57.1%, 重症型66.7%と重症型ほど高率であった. 最も高頻度に分離された *S. constellatus* は, 重症型については58.3%の関

Table 9. Abscess-forming ability of and viable bacterial count in abscesses caused by mixed infection of *F. nucleatum* and *S. constellatus*

Strain	Inoculum (CFU/mouse)		Number of mice with abscesses <sup>a)</sup>	Number of abscesses per mouse	Number of viable bacteria per abscess [CFU, mean ( $\pm$ SD)]	
	<i>F. nucleatum</i>	<i>S. constellatus</i>			<i>F. nucleatum</i>	<i>S. constellatus</i>
<i>F. nucleatum</i>	$2.9 \times 10^9$	$3.6 \times 10^8$	5	1.0	$1.5 (\pm 0.45) \times 10^6$	$4.0 (\pm 2.00) \times 10^7$
ATCC25586	$8.0 \times 10^9$	$1.4 \times 10^8$	3 <sup>b)</sup>	3.3	$2.3 (\pm 2.20) \times 10^7$	$4.0 (\pm 2.55) \times 10^7$
+	$8.0 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$	5	1.0	$1.0 (\pm 0.43) \times 10^6$	$3.8 (\pm 2.05) \times 10^7$
<i>S. constellatus</i>	$8.0 \times 10^7$	$1.4 \times 10^7$	4	1.0	$2.3 (\pm 1.10) \times 10^6$	$1.0 (\pm 0.60) \times 10^6$
ATCC27823	$8.0 \times 10^6$	$1.4 \times 10^6$	0			
<i>F. nucleatum</i>	$1.7 \times 10^9$	$1.6 \times 10^{10}$	nt <sup>c)</sup>			
75PV5	$4.5 \times 10^8$	$1.4 \times 10^{10}$	nt			
+	$1.0 \times 10^8$	$5.2 \times 10^8$	4 <sup>d)</sup>	4.5	$1.3 (\pm 0.15) \times 10^6$	$2.2 (\pm 0.35) \times 10^7$
<i>S. constellatus</i>	$3.6 \times 10^8$	$5.2 \times 10^8$	5	5.4	$1.8 (\pm 0.87) \times 10^6$	$3.3 (\pm 1.53) \times 10^7$
75RS1	$1.0 \times 10^6$	$5.2 \times 10^7$	4	1.8	$2.0 (\pm 0.72) \times 10^5$	$4.0 (\pm 5.13) \times 10^5$
	$3.6 \times 10^5$	$5.2 \times 10^6$	5	1.0	$5.2 (\pm 3.18) \times 10^5$	$2.0 (\pm 1.01) \times 10^6$
<i>F. nucleatum</i>						
86PV5	$2.2 \times 10^9$	$1.8 \times 10^{10}$	nt			
+	$2.8 \times 10^8$	$5.8 \times 10^8$	2 <sup>e)</sup>	6.0	$1.2 (\pm 0.21) \times 10^6$	$2.4 (\pm 0.27) \times 10^7$
<i>S. constellatus</i>	$2.8 \times 10^6$	$5.8 \times 10^6$	2	1.0	$1.0 \times 10^4$	$1.7 \times 10^4$
86RS2						
<i>F. nucleatum</i>						
90PV1	$7.0 \times 10^8$	$1.0 \times 10^{10}$	5	3.8	$3.4 (\pm 0.51) \times 10^6$	$3.8 (\pm 1.14) \times 10^7$
+	$3.0 \times 10^6$	$2.2 \times 10^6$	0			
<i>S. constellatus</i>	$3.6 \times 10^5$	$1.2 \times 10^7$	0			
90RS1						

a) In all cases, five mice were examined.

b) Two mice died before necropsy. Therefore, three mice were examined.

c) All five mice died. Therefore, no mice were examined.

d) One mouse died. Therefore, four mice were examined.

e) Three mice died. Therefore, two mice were examined.

与を示した(図3)。*Peptostreptococcus* は軽症型23.5%, 中等症型60.0%, 重症型66.7%に認められ, 重症型と中等症型において高い割合で分離された( $p<0.01$ )。なかでも *Peptostreptococcus micros* は中等症型54.3%, 重症型58.3%の高い割合で分離された。*Fusobacterium* と *Prevotella* はほぼ同様の傾向を示し, それぞれ軽症型43.1%, 47.1%, 中等症型54.3%, 57.1%, 重症型54.2%, 58.3%の割合で分離された。*Prevotella* の一部も含まれる黒色色素産生性嫌気性グラム陰性桿菌を検討したところ, 軽症型56.9%, 中等症型51.4%, 重症型79.2%に認められ, いずれの病型においても高い分離率を示した。

以上の結果, 症状の強い症例ほど嫌気性グラム陽性球菌, 特に *Peptostreptococcus* が分離され( $p<0.01$ ), また有意差はないものの *S. milleri* グループ, *Prevotella*, *Fusobacterium* の分離率が高い傾向が認められた。

## II. 顎口腔領域化膿性感染症からの高頻度分離菌によるマウス腹腔内における膿瘍形成能。

分離頻度の高かった *S. constellatus*, *F. nucleatum*, *P. intermedia* の膿瘍形成能について, その菌液をマウスの腹腔に注射することにより検討した。

### 1. 単独感染の膿瘍形成率

#### 1) *F. nucleatum* 単独感染

*F. nucleatum* は供試したすべての菌株共に,  $10^7$ CFU 接種したときに膿瘍形成が認められ,  $10^6$ CFU 以上の接種では形成率80~100%を示した。また,  $10^6$ CFU 台までの接種菌量の場合で

も斃死するマウスは認められなかった(表7)。膿瘍形成個数は全体で1匹当たり平均1.1個であり, 膿瘍1個当たりの生菌数は,  $10^4\sim10^7$ CFU であった。膿瘍の肉眼的所見は黄白色の塊状で, 分布は胃の大弯周囲が最も多く, 小腸・腸間膜, 下腹部脂肪組織内などにも付着して認められた(図4)。膿瘍の病理組織学的所見は, 外層を線維芽細胞およびコラーゲンを多量に含む層, その内側を多形核白血球および壊死組織を含む層に分別して観察できたが, 多くの膿瘍は中心に壊死性組織塊を認める明瞭な3層構造を示した(図5)。その組織像は標準菌株と臨床分離菌株で著しい違いは認められなかった。

#### 2) *P. intermedia* 単独感染

*P. intermedia* ATCC25611 については  $1.7\times10^5\sim1.7\times10^{10}$  CFU, *P. intermedia* 75PV1 株については,  $3.8\times10^5\sim3.8\times10^9$ CFU, *P. intermedia* 76PV3 株については,  $3.2\times10^5\sim1.2\times10^{10}$ CFU, *P. intermedia* 106PV3 株については  $4.4\times10^5\sim4.4\times10^9$ CFU の接種菌量について検討したが, いずれの場合にも膿瘍形成およびマウスの斃死は認められなかった。

#### 3) *S. constellatus* 単独感染

*S. constellatus* は各菌株で異なった結果が認められた(表8)。*S. constellatus* ATCC27823 については,  $19^{\circ}$ CFU 以上の接種では膿瘍形成は認められたが,  $10^6$ CFU 以下の接種では膿瘍形成は認められなかった。また,  $10^6$ CFU 台の接種でも膿瘍形成率は低く, 50%にすぎなかった。しかしながら, 有荚膜株の75RS1 および 86RS2 株の膿瘍形成能は高く,  $10^7$ CFU 台の接種でも膿瘍形成が認められ,  $10^6$ CFU 台の接種では被験全てのマ

Table 10. Abscess-forming ability of and viable bacterial count in abscesses caused by mixed infection of *F. nucleatum* and *P. intermedia*

Strain	Inoculum (CFU/mouse)		Number of mice with abscesses <sup>a)</sup>	Number of abscesses per mouse	Number of viable bacteria per abscess [CFU, mean ( $\pm$ SD)]	
	<i>F. nucleatum</i>	<i>P. intermedia</i>			<i>F. nucleatum</i>	<i>P. intermedia</i>
<i>F. nucleatum</i>						
ATCC25586	$3.0\times10^8$	$4.4\times10^8$	5	1.8	$1.1 (\pm 0.14)\times10^7$	$1.3 (\pm 0.37)\times10^8$
	$2.2\times10^7$	$4.0\times10^8$	5	1.0	$1.3 (\pm 0.41)\times10^6$	$2.0 (\pm 1.13)\times10^7$
+	$1.5\times10^6$	$3.6\times10^8$	0			
<i>P. intermedia</i>	$1.5\times10^6$	$3.6\times10^8$	0			
ATCC25611	$1.5\times10^4$	$3.6\times10^8$	0			
<i>F. nucleatum</i>						
ATCC25586						
+	$4.0\times10^7$	$2.6\times10^7$	5	3.4	$6.5 (\pm 0.50)\times10^6$	$1.4 (\pm 0.40)\times10^7$
<i>P. intermedia</i>	$4.0\times10^6$	$2.6\times10^8$	0			
75PV1						
<i>F. nucleatum</i>						
75PV5	$1.6\times10^7$	$2.7\times10^8$	5	3.6	$7.9 (\pm 1.10)\times10^6$	$1.2 (\pm 0.10)\times10^7$
+	$1.2\times10^7$	$2.0\times10^7$	5	1.2	$5.1 (\pm 0.10)\times10^6$	$1.5 (\pm 0.08)\times10^7$
<i>P. intermedia</i>	$1.6\times10^6$	$2.7\times10^7$	1	1.0	$4.2\times10^5$	$1.5\times10^6$
75PV1						
<i>F. nucleatum</i>						
75PV5						
+	$1.0\times10^8$	$3.2\times10^6$	5	2.2	$1.1 (\pm 0.83)\times10^6$	$1.2 (\pm 0.43)\times10^6$
<i>P. intermedia</i>	$2.0\times10^7$	$4.6\times10^6$	5	1.0	$4.2 (\pm 2.16)\times10^6$	$1.8 (\pm 0.75)\times10^6$
76PV3						

a) In all cases, five mice were examined.

ウスに膿瘍形成が認められた。さらに 86RS2 株では、 $10^{10}$ CFU 台の接種量で接種後 2 日目までに死亡するマウスが認められた。90RS1 株は、 $10^{10}$ CFU 台の接種でも膿瘍形成は認められなかった。膿瘍形成が認められた場合、マウス 1 匹当たり平均 1.0 個が形成され、生菌数は  $10^6 \sim 10^8$ CFU/膿瘍であった。病理学的所見は、*F. nucleatum* による膿瘍と著しい違いは認められなかった。

## 2. 混合感染による膿瘍形成率

1) *F. nucleatum* ATCC25586 と *S. constellatus* ATCC27823 の混合感染

共に  $10^6$ CFU 台の菌量で接種した場合、20%のマウスが接種後 48 時間以内に斃死し、7 日目まで生存した全てのマウス (8 匹) に膿瘍形成を認めた (表 9)。また、単独感染では膿瘍形成を示さない *S. constellatus* ATCC27823 株の菌量 ( $10^7$ CFU 台) と単独感染でも膿瘍形成を示す *F. nucleatum* ATCC-25586 の最小菌量 ( $10^7$ CFU 台) の混合感染で形成された膿瘍から *F. nucleatum* が  $10^5 \sim 10^7$ CFU/膿瘍、*S. constellatus* が  $10^6 \sim 10^8$ CFU/膿瘍、検出され、接種後 1 週間の膿瘍内には *S.*

*constellatus* が比較的多いことがわかった。両者の接種菌量が共に  $10^6$ CFU 以下の混合感染では、各単独感染の場合と同様、膿瘍の形成は認められなかった。

2) *F. nucleatum* 75PV5 と *S. constellatus* 75RS1 の混合感染

*S. constellatus* を  $10^{10}$ CFU 台として、*F. nucleatum* を  $10^8$ あるいは  $10^6$ CFU 台の菌量で混合接種すると、接種後 48 時間までに全てのマウスは斃死した。*F. nucleatum* を  $10^8$ CFU 台、*S. constellatus* を  $10^6$ CFU 台に調整して接種した場合、致死率は 10%に低下したが、生存した全てのマウスに膿瘍が形成された。また、単独接種では膿瘍形成が認められない菌量、*F. nucleatum*  $10^6$ CFU 台、*S. constellatus*  $10^6$ CFU 台を混合接種した場合にも、全てのマウスに膿瘍が形成された。1 匹なりに形成された膿瘍の数は接種菌量に比例して増加し、膿瘍 1 個当たりの菌数は、*F. nucleatum* が  $10^5 \sim 10^6$ CFU/膿瘍、*S. constellatus* が  $10^5 \sim 10^7$ CFU/膿瘍であった。これらの結果から、この組合せで病原性が相乗的に作用していることが示された。

Table 11. Abscess-forming ability of and viable bacterial count in abscesses caused by mixed infection of *S. constellatus* and *P. intermedia*

Strain	Inoculum (CFU/mouse)		Number of mice with abscesses <sup>a)</sup>	Number of abscesses per mouse	Number of viable bacteria per abscess [CFU, mean ( $\pm$ SD)]	
	<i>S. constellatus</i>	<i>P. intermedia</i>			<i>S. constellatus</i>	<i>P. intermedia</i>
<i>S. constellatus</i> ATCC27823	$7.0 \times 10^8$	$9.0 \times 10^8$	3	1.3	$1.2 (\pm 0.20) \times 10^8$	$1.6 (\pm 0.40) \times 10^8$
+	$1.0 \times 10^7$	$1.6 \times 10^8$	0			
<i>P. intermedia</i> ATCC25611	$1.0 \times 10^6$	$1.6 \times 10^8$	0			
	$1.0 \times 10^5$	$1.6 \times 10^8$	0			
<i>S. constellatus</i> ATCC27823	$2.2 \times 10^8$	$4.0 \times 10^5$	4	1.0	$3.9 (\pm 0.10) \times 10^6$	$4.3 (\pm 0.70) \times 10^7$
+	$2.2 \times 10^7$	$4.0 \times 10^4$	1	1.0	$1.2 \times 10^5$	$3.3 \times 10^5$
<i>P. intermedia</i> 75PV1						
<i>S. constellatus</i> 75RS1	$2.3 \times 10^8$	$7.4 \times 10^8$	5	3.8	$2.0 (\pm 0.95) \times 10^6$	$1.1 (\pm 0.10) \times 10^7$
+	$2.3 \times 10^7$	$7.4 \times 10^7$	3	1.7	$2.4 (\pm 0.60) \times 10^5$	$1.1 (\pm 0.10) \times 10^6$
<i>P. intermedia</i> 75PV1	$2.3 \times 10^6$	$7.4 \times 10^6$	0			
<i>S. constellatus</i> 75RS1	$2.0 \times 10^{10}$	$4.0 \times 10^8$	nt <sup>b)</sup>			
+	$2.5 \times 10^8$	$3.0 \times 10^9$	0			
<i>P. intermedia</i> 76PV3						
<i>S. constellatus</i> 86RS2	$1.3 \times 10^8$	$6.0 \times 10^7$	3 <sup>c)</sup>	4.7	$5.7 (\pm 3.56) \times 10^6$	$8.3 (\pm 5.21) \times 10^6$
+	$1.3 \times 10^8$	$6.0 \times 10^7$	5	1.0	$7.9 (\pm 4.10) \times 10^6$	$3.0 (\pm 0.95) \times 10^7$
<i>P. intermedia</i> ATCC25611	$1.3 \times 10^7$	$6.0 \times 10^7$	2	1.0	$3.4 \times 10^5$	$2.0 \times 10^6$
	$1.3 \times 10^6$	$6.0 \times 10^7$	0			
<i>S. constellatus</i> 90RS1	$8.7 \times 10^8$	$2.7 \times 10^8$	0			
+	$8.7 \times 10^7$	$2.7 \times 10^7$	0			
<i>P. intermedia</i> 75PV1						

a) In all cases, five mice were examined.

b) All five mice died. Therefore, no mice were examined.

c) Two mice died before necropsy. Therefore, three mice were examined.

### 3) *F. nucleatum* 86PV2 と *S. constellatus* 86RS2 の混合感染

*F. nucleatum* を  $10^6$ CFU 台, *S. constellatus* を  $10^{10}$ CFU 台で混合接種した場合, 接種後48時間までに全てのマウスが斃死した。*F. nucleatum* を  $10^6$ CFU 台, *S. constellatus* を  $10^6$ CFU 台程度の菌量で接種すると接種後2日目までに60%が死亡し, 生存した全てのマウスに多発性の膿瘍形成が認められた。また, それぞれ単独で膿瘍形成がみられない菌量, *F. nucleatum*  $10^6$ CFU, *S. constellatus*  $10^6$ CFU に接種菌量を調節したところ40%に膿瘍が形成され, この組合せにおいても相乗効果が認められた。

### 4) *F. nucleatum* 90PV1 と *S. constellatus* 90RS1 の混合感染

*F. nucleatum* を単独感染で100%の膿瘍形成がみられた  $10^6$ CFU 台, *S. constellatus* を単独感染で膿瘍形成がみられない  $10^{10}$ CFU 台として混合した場合, 接種後1週間で100%の膿瘍形成率を認めた。膿瘍1個当たりの平均生菌数は, *S. constellatus* が  $3.8 \times 10^6$ CFU/膿瘍, *F. nucleatum* が  $3.4 \times 10^6$ CFU/膿瘍で *S. constellatus* の方が多い結果となった。しかしながら, それぞれ単独では膿瘍形成がみられない菌量, *F. nucleatum*  $10^6$ CFU 台, *S. constellatus*  $10^6$ CFU 台で混合接種した場合は, 膿瘍の形成は認められなかった。

### 5) *F. nucleatum* と *P. intermedia* の混合感染

いずれの組合せも相乗的作用は認められず, 膿瘍形成率は *F. nucleatum* 単独感染と同様の結果となったが, 接種菌量に比例して形成される膿瘍の個数が増加する傾向にあり, 形成された全ての膿瘍から接種した両菌種が検出された(表10)。

### 6) *S. constellatus* と *P. intermedia* の混合感染

*S. constellatus* ATCC27823 株単独で膿瘍形成がみられなかった菌量 ( $10^6$ CFU 台) と, 単独では膿瘍形成を示さない *P. intermedia* ATCC25611 あるいは 75PV1 株を混合したところ膿瘍が形成された。また, 75RS1 株および 86RS2 株単独感染ではマウスの斃死が認められなかった菌量 (各々  $10^6$ ,  $10^6$ CFU 台) での *P. intermedia* 76PV3 あるいは ATCC25611 株との混合感染では斃死がみられ, 相乗的な作用が認められた(表11)。すべての膿瘍から両接種菌が分離され, その生菌数は *P. intermedia* が *S. constellatus* と同等, あるいはより多く検出された。90RS1 との混合では,  $10^6$ CFU までに膿瘍形成は認められなかった。

## 考 察

常在菌叢とは, 外界に通じる皮膚や粘膜部位に常在する微生物集団を示すが, 口腔領域はその解剖学的特殊性のために, 極めて多種類の微生物によって特徴的な菌叢が形成されている<sup>13)~15)</sup>。さらに近年の, 嫌気性菌培用法, 同定法の進歩および普及により, その中心は嫌気性菌, 特に無芽胞嫌気性菌であることが確認された<sup>16)~18)</sup>。従来より, 口腔常在菌は弱い病原性のためそれほど重視されてこなかったが, 呼吸器感染症では, Bartlett ら<sup>19)~21)</sup> が非結核性膿胸において無芽胞嫌気性菌が起炎菌の1つとして重要な位置を占めているとしており, Gossling<sup>22)</sup> は上気道炎, 肺炎の原因として口腔常在菌の誤嚥を示唆し, 口腔領域のみならず各種感染症から口腔常在菌, 特に嫌気性菌を起炎菌とする報告が増加している。口腔外科領域では, 歯槽膿瘍を中心とした検索が多く, *Streptococcus*,

*Peptostreptococcus* が主要検出菌であるが, 嫌気性グラム陰性桿菌の検出率は施設により異なっている<sup>23)~27)</sup>。一般に常在菌が感染症を発症する場合, 他科領域では宿主の免疫能等が低下することによる<sup>1)</sup>が, 歯科口腔外科を受診する化膿性感染症例の多くが基礎疾患のない比較的健康な個体である。このような健康な宿主に, 複数の口腔常在菌が化膿性炎症を発症させる機序については, いまだに不明な点が少ない。これらのうち, どの検出菌が化膿性感染症発症の中心として, あるいは感染初期から作用しているのかは不明であるが, 検出菌自体はその感染症の細菌叢を反映しているものと思われる。ある微生物をある病原体と決定する場合, 参考とされるのが Koch の条件である<sup>8)13)</sup>。すなわち, 1) その微生物が例外なくその病気の病変部に証明されること, 2) その微生物がその病気以外の病気では検出されないこと, 3) その微生物を純培養し, 培養の代を重ねたうえ実験動物に戻したとき, もとと同じ病気が再現され, かつ病変部から接種した菌が回収されること, という3条件が示されている。しかし, 病原として認められている細菌でも, 上述の条件全てを満足させていない場合もある。顎口腔領域化膿性感染症では口腔常在菌が検出菌であり, その検出状況も報告者により様々で1)および2)はあてはまらない。また3)についても, 動物皮下・粘膜下に検出菌を接種した実験は多いが, 接種菌が完全に回収されている研究報告は少ない<sup>28)29)</sup>。そのため顎口腔領域化膿性感染症の起炎菌を決定することは困難であるが, 重症度別に高頻度検出菌とその感染形態の傾向を把握し, 動物実験で高頻度検出菌および高頻度感染形態による膿瘍形成能を確認することは, 検出菌の起炎性ならびに病原性を示唆することができ, 臨床治療上, 投薬などに際して有用であると考えられる。

まず, 今回の細菌学的検索では閉塞性化膿性感染症例を症状の強さにより軽症型, 中等症型, 重症型の3型に分類して検討を行った。いずれの炎症状態においても90%前後で嫌気性菌の関与が認められ, 特に中等症型は35症例中34例(97.1%)から嫌気性菌が検出された。また, 嫌気性菌のみが検出された症例は重症型において他よりも高い傾向にあった。さらに, 嫌気性菌の総分離菌数に対する割合は, 中等症型(70.7%), 重症型(75.9%)において軽症型(57.1%)よりも有意に高く( $p < 0.05$ ), 化膿性炎症が強い場合には嫌気性菌の関与が重要であると思われる結果となった。1症例当りの分離菌株数は, 重症型および中等症型では5菌種分離例がそれぞれ33.3%, 22.9%, 軽症型では3菌種分離例が29.4%と最も多く, 全体では3菌種分離例が23.6%と高率に認められた。Lewis ら<sup>30)</sup> が, 急性歯槽膿瘍から穿刺吸引法により検体を採取し迅速に嫌気培養を行い報告している9編の論文を分析したところ, 1検体当りの検出菌は平均2.5~7.4株であったと述べている。また, 急性歯槽膿瘍に限って報告されている7編の論文についても分析しており, これらの平均は2.5~5.8株であった。今回の検索では, 軽症型3.7株, 中等症型4.0株, 重症型4.5株であり, 欧米の報告に近い結果が得られ, また, 1検体当り4菌種以上分離された症例数の割合は重症型において軽症型よりも有意に高く( $p < 0.05$ ), 顎口腔領域化膿性感染症の多くが1, 2菌種の少数菌感染によるものではなく, 多数の弱毒菌により発症しており, さらに, 症状の増悪化には複数菌感染が重要であることが示唆された。グラム染色性による検出菌の組合せは, グラム陽性球菌とグラム陰性桿菌を含む症例が最も多く, 軽症型68.6%, 中等症型

80.0%, 重症型87.5%に認められた。また, 重症型ではグラム陰性桿菌は必ずグラム陽性球菌との組合せで検出されている。さらに, 嫌気性グラム陽性球菌は, 軽症型に比べ中等症型あるいは重症型で有意に分離率が高い傾向にあった ( $p < 0.01$ )。これらのことから, 化膿性炎症の増悪期あるいは進展時における感染形態は, グラム陽性球菌とグラム陰性桿菌の混合感染であることが示唆された。グラム染色性による感染形態を検討した報告は少なく, 近年の細菌分類学の急速な変化により再分類される菌種が多いことから, 他と比較することは困難であるが, Lewis ら<sup>31)</sup>が50症例の急性歯槽膿瘍を検討したところ, 嫌気性グラム陰性桿菌が症例の62%で嫌気性グラム陽性球菌とともに検出され, 症例の42%で好気性グラム陽性球菌とともに検出されたと述べており, 今回の報告同様に嫌気性グラム陰性桿菌とグラム陽性球菌との関連性が高いことを指摘している。菌種別では, いずれの病型からも総分離菌に占める割合が多い菌種は, *S. constellatus*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* であり, グループとして *S. milleri* グループ, 黒色色素産生性嫌気性グラム陰性桿菌あるいは *Prevotella* 属であった。また, *Peptostreptococcus micros* は, 重症型, 中等症型から高率に分離された ( $p < 0.01$ )。歯周疾患の起病因菌として注目されている黒色色素産生性嫌気性グラム陰性桿菌は, 軽症型56.9%, 中等症型51.4%, 重症型79.2%に認められ, 有意差はないものの重症型で高い関与率を示した。黒色色素産生性グラム陰性桿菌あるいは *Prevotella* の中には  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株が存在する場合があります。特に, 抗菌剤が投与されているにも関わらず炎症症状が増悪化する症例には, その存在を考慮して治療を行わなければならないと思われる<sup>32)33)</sup>。Sundqvist ら<sup>34)</sup>は根尖性歯周炎72症例のうち22症例 (30.6%) から黒色色素産生性 *Bacteroides* (*Prevotella* の一部と *Porphyromonas*) を検出し, その16症例 (72.7%) が急性症状を示したと述べているが, 浅田ら<sup>35)</sup>は, 各菌の症例に占める割合で急性炎型と慢性炎型を比較すると *Bacteroides* に差は認めず, *Streptococcus* と *Peptostreptococcus* が急性炎型に高頻度であったと報告している。Heimdahl ら<sup>3)</sup>も *Bacteroides* の関与率は重症型と軽症型に差はなく, *Streptococcus* についても差はないとしているが, *Fusobacterium* は重症型に有意に高率であったと述べている。Oguntebi ら<sup>36)</sup>も *Fusobacterium* が歯源性根尖性膿瘍の約70%に関与を認めたと報告している。今回の分離率の検索結果では, *Peptostreptococcus* にのみ重症型と軽症型の間に有意差がみられたが, *S. milleri* グループ, 黒色色素産生性嫌気性グラム陰性桿菌, *Fusobacterium* にも重症型ほど検出される傾向が認められた。*Fusobacterium* は多くの抗菌剤に良好な感受性を示す細菌であるが, エリスロマイシンなどのマクロライド系抗菌剤に対して非感受性株が臨床に多く認められる<sup>3)</sup>。宮内ら<sup>37)</sup>によると *Fusobacterium* の68%がエリスロマイシン耐性であると述べており, 中・重症型症例に対する初期治療においては, マクロライド系抗菌剤の使用は合理的ではないことが今回の検索から示唆された。重症型から高率に検出される傾向にあった *S. milleri* グループは,  $\alpha$ 溶血または非溶血性である *S. constellatus*, *S. intermedius* と  $\beta$ 溶血を示す *S. anginosus* の3菌種の総称で, Guthof<sup>38)</sup>が歯周膿瘍より分離したのが最初の報告例と思われる。Coykendall ら<sup>39)</sup>はこれら3菌種を統合して *S. anginosus* と呼称することを提唱していたが, 現在ではDNA-DNA ハイブリダイゼーションなどの解析により3菌種

は別の菌種であるとされている<sup>40)</sup>。本菌種は, ヒトの口腔, 腸管などの常在菌叢として広く分布しているが, 欧米では膿瘍形成性起炎菌として早くから注目されており, 近年, 本邦でも呼吸器感染症においてその重要性が指摘されている<sup>22)41)~46)</sup>。しかし, 口腔外科領域では従来は  $\alpha$ あるいは  $\gamma$ -*streptococcus*, 嫌気性 *streptococcus* として扱われていたと考えられる報告が多く, *S. milleri* グループについての病原性や臨床的意義はなお充分には解明されていない。

以上のように, *F. nucleatum* や *P. intermedia* などの嫌気性グラム陰性桿菌が口腔領域の膿瘍から分離される場合は, *Streptococcus* や *Peptostreptococcus* のようなグラム陽性球菌と共に混合感染形態で分離されることが多いということが今回の臨床症例の検討結果で確認された。さらに, 重症型では嫌気性グラム陰性桿菌が検出された症例はすべてグラム陽性球菌と同時に分離されており, 中等症型においても1例を除きグラム陰性桿菌はグラム陽性球菌とともに検出されていることから, 実験感染モデルとしてはこのような高頻度分離菌を混合感染させたモデルのほうがより臨床に近いと言える。口腔領域から分離される細菌の膿瘍形成実験は動物皮下に接種した報告が多いが, 腹腔を利用した検索は見当たらない。腹腔は比較的広範囲で無菌の状態の組織間隙が広がっており多種臓器が存在していることから, 各種細菌の膿瘍形成能, 病原性, 組織付着性などを検討する上で有用であると思われる。また, 腹腔内に形成される膿瘍は, 一塊として摘出が可能であり生菌数の測定も容易に行い得るという利点を有する。*Bacteroides fragilis* の病原性の研究はマウス腹腔内モデルの確立により飛躍的に進歩し, 英膜等の細胞構成成分の持つ病原因子としての役割解明に寄与してきた<sup>45)~48)</sup>。しかし, 口腔外科領域感染症においては, 臨床病巣からの菌の分離あるいは検出菌の薬剤感受性試験を中心とした検索が多く, 実際に複数の検出菌の中でどの菌が化膿性感染症の主要起炎菌であるかは明らかにできていない。そこで, 高頻度分離菌の膿瘍形成能, 病原性ならびにそれらの関連性を調べる目的で, マウスを用いた実験を行った。

まず英膜の有無と膿瘍形成能との関係では単独感染実験において, *S. constellatus* は有英膜株で膿瘍形成能が強くみられ, 光学顕微鏡的に英膜が確認できなかった株は, 膿瘍形成能が認められないか弱いものであった。*S. milleri* グループの病原因子としては, 英膜多糖体や, ヒアルロニダーゼ, ゼラチナーゼ, コラゲナーゼ, その他の組織融解酵素が考えられているが, いまだ明確ではない<sup>29)</sup>。新里ら<sup>50)</sup>, Brook ら<sup>51)</sup>によると *S. milleri* グループでは, 英膜を有する株での死亡率, 膿瘍形成率が高く, 化膿性感染症を惹起するには英膜多糖体を有することが必要ではないかと述べている。今回の検討でも光学顕微鏡下において明らかに英膜が認められた株では  $10^6$ CFU/マウス程度の接種で死亡するマウスが認められた。しかし, 英膜が認められない株でも  $10^6$ CFU/マウスの接種菌量で膿瘍形成が確認出来る株と全く確認出来ない株とがあり, 英膜の厚さや他の因子も病原性に関与している可能性が考えられた。英膜の存在は膿瘍形成に関与する因子の1つと考えられるが, *F. nucleatum* は英膜, 線毛, 鞭毛を有していない細菌であり, この膿瘍形成機序に関しては不明な点が多い。今回の実験では, 供試したすべての株に単独での膿瘍形成が確認され,  $10^6$ CFU/マウスまでの接種菌量では致死毒性は認められなかった。一方, *F. nucleatum* と *S. constellatus* の混合感染実験ではいずれも

10<sup>6</sup>CFU/マウス以上の接種菌量の組合せで100%の膿瘍形成を認めたが、明らかに莢膜が確認できる *S. constellatus* 75RS1 株あるいは 86RS2 株を *F. nucleatum* と混合接種すると100%の致死率をみる菌量もあり、これらの混合感染においては、有莢膜株の存在が症状の増悪に影響を及ぼしていることが示唆された。さらに、単独で全く膿瘍形成がみられなかった *S. constellatus* 90RS1 株でも、*F. nucleatum* との混合感染で形成された膿瘍からは *F. nucleatum* より多く生菌数として検出できたことから、*F. nucleatum* の存在が *S. constellatus* の増菌を助ける働きをしている可能性が考えられた。臨床症例では、重症型で *F. nucleatum* は必ずグラム陽性球菌との混合感染として認められたことから、動物実験の結果と一致する。本菌種の内毒素は黒色色素産生性嫌気性グラム陰性桿菌と異なり、リポ多糖体に 2-ケト-3-デオキシオクトネイトおよびペプトースが含まれており、リビドAの組成は属を越えて *Pseudomonas* や *Salmonella* のそれに類似している<sup>7)</sup>。その内毒素活性は *Escherichia coli* に比して著しく強く、極めて低い内毒素濃度でも血清との相互作用により好中球に対する強い走化活性を示すとされている<sup>32)</sup>。また、本菌種にはヒトおよび種々の動物の赤血球を凝集する能力があり、本菌の血球凝集活性は、定着機序の指標として重視されている<sup>53)-55)</sup>。さらに、*F. nucleatum* と種々の口腔病原細菌間での共凝集試験では、*Streptococcus sanguis*, *P. intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* などと強い共凝集反応が認められている<sup>56)-58)</sup>。渡辺<sup>45)</sup>は、膿瘍形成には莢膜等の細胞構成成分の他に、細菌と血液の凝固促進作用からのものもあるとしている。すなわち、フィブリン形成は膿瘍形成とも密接に関係しており、フィブリン沈着内への細菌の封じ込めが急性炎時の腹腔内における主要な防衛機構の一つとなり、膿瘍形成への最初のステップになるということである。以上のことから *F. nucleatum* の膿瘍形成能は、*F. nucleatum* の持つ強い血球凝集活性と細菌間での共凝集能そして好中球に対する強い走化活性のある内毒素が膿瘍形成のきっかけになるフィブリン巣の形成を誘導して膿瘍形成に関わっている可能性が推察された。しかし、同じ高頻度分離菌であり、薄い莢膜を保有するとされる *P. intermedia* は、今回のマウス腹腔内感染実験では膿瘍形成能を確認することができなかった。同様に Mayrand ら<sup>59)</sup>も、糖分解性のある黒色色素産生性嫌気性グラム陰性桿菌はまったく病原性を示さなかったと述べている。われわれの結果に対して Lewis ら<sup>28)</sup>、van Steenberg ら<sup>60)</sup>によると、*P. intermedia* をマウス皮下に単独接種することによって、膿瘍形成が組織学的に認められたと報告している。マウスの腹腔は皮下と異なり、粗な組織間隙が広範囲に広がっている。このような部位に接種された細菌が膿瘍を形成するということは、その細菌が持つ膿瘍形成能が著しく強いことを示唆していると思われ、今回の結果から *P. intermedia* が膿瘍形成の初期段階に関与している可能性は低いと考えられた。さらに、*P. intermedia* は単独で腹腔に膿瘍を形成しないにもかかわらず、混合感染によって形成された膿瘍内から他の接種菌と同等かより多い生菌数として認められることから、膿瘍形成能の強い細菌の存在によって *P. intermedia* の発育が促進され、その病巣内で増菌し、*P. intermedia* の持つ組織破壊酵素および毒性物質などの直接的病原因子により、感染症の存続、拡大に影響を与えているのではないかと推察された。この動物実験における現象、特に *S. constellatus* との混合感染では、好気性菌と嫌気

性菌による二相性理論に相応するものであると思われた<sup>61,62)</sup>。混合感染における相乗作用については、好中球貪食能の抑制や細胞内殺菌作用の阻害などの宿主の感染防御機構に対する影響、菌の増殖に必要な栄養素の供給、局所の酸化還元電位の低下が挙げられるが不明な点が多い<sup>3,33)</sup>。著者等が口腔感染症から検出された細菌を用いて、試験管内における酸化還元電位と生菌数の関連性を検索した結果、今回のマウスの腹腔における実験で相乗効果の認められた *S. constellatus* と *F. nucleatum* の組合せ、および *S. constellatus* と *P. intermedia* の組合せによる酸化還元電位は著しい低下を認め、同時に生菌数の増加も相乗効果として認められた<sup>3)</sup>。*S. constellatus* とこれらの嫌気性菌の組合せは臨床材料から高頻度に検出され、加えて、動物実験により病原性の増強が認められることから臨床との強い関連性を示すものと考えられた。

## 結 論

顎口腔領域化膿性感染症患者の閉塞膿瘍内の細菌叢について起炎菌の観点から重症度別に高頻度検出菌および感染形態を中心に検討した。また、化膿性感染症から高頻度に検出された *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *S. constellatus* の標準菌株と臨床分離菌株を使用して、それらの膿瘍形成能および相互作用について動物実験を行い以下の結果を得た。

1. 顎口腔領域化膿性感染症患者110症例を症状の強さにより軽症型51例、中等症型35例、重症型24例に分類し、その閉塞膿瘍について細菌学的検索を行った結果、総計437株、嫌気性菌289株(66.1%)、好気性菌148株(33.9%)、が分離された。総分離菌中の嫌気性菌の占める割合は重症型(75.9%)および中等症型(70.0%)において軽症型(57.1%)よりも高率であった( $p<0.05$ )。

2. 110症例のうち好気性菌感染症例11例(10.0%)、嫌気性菌感染症例20例(18.2%)、混合感染症例79例(71.8%)であり、全症例の90.0%から嫌気性菌が分離された。重症度別の嫌気性菌の分離率は、軽症型84.3%、中等症型97.1%、重症型91.7%で有意差はなく、顎口腔領域化膿性感染症ではいずれの病型においても嫌気性菌が高い割合で関与していることが判明した。

3. 顎口腔領域化膿性感染症110症例のグラム染色性による感染形態はグラム陽性球菌とグラム陰性桿菌を含む症例が84例(76.4%)と多く認められた。重症度別では、両菌を含む症例数の割合に有意差はないものの、重症型(87.5%)と中等症型(80.0%)は軽症型(68.6%)よりも、両菌が高い割合で関与している傾向にあった。

4. 各重症度別の菌種の分離率は、嫌気性グラム陽性球菌と嫌気性グラム陰性桿菌において重症例ほどその分離率が高くなる傾向にあり、高頻度分離菌である *S. milleri* グループ、*Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Prevotella* も同様の傾向を認めることから、顎口腔領域化膿性感染症は嫌気性菌を中心とした複数菌により発症し、炎症の増悪あるいは急性症状の発症にはグラム陽性球菌と嫌気性グラム陰性桿菌が深く関与していることが示唆された。

5. 高頻度分離菌株についてマウスの腹腔を用いて、化膿性感染症の再現実験を行ったところ、単独感染において、*F. nucleatum* は供試した全株で、接種菌量が10<sup>7</sup>CFU/マウス以上の時に膿瘍を形成したが、*P. intermedia* は全株で10<sup>6</sup>CFU/マウスを接種しても膿瘍形成は認められなかった。*S. constella-*

tus は菌株により膿瘍形成能に差が認められ、莢膜を保有する株の膿瘍形成能が明らかに高いことが示唆された。

6. 混合感染実験では、*S. constellatus* の有莢膜株と *F. nucleatum* の組合せで強い相乗効果を示し、*S. constellatus* と *P. intermedia* の組合せの一部で相乗的な作用がみられた。しかしながら、*F. nucleatum* と *P. intermedia* の組合せでは相乗効果はなく、*F. nucleatum* 単独感染での結果と同様な膿瘍形成率を認めた。

7. 臨床症例から高頻度に検出されるグラム陽性球菌と嫌気性グラム陰性桿菌の口腔常在菌相互間の混合感染形態は、動物実験においても膿瘍を形成することができ、さらに症状の増悪化が認められることから、口腔常在菌が内因感染として顎口腔領域化膿性感染症の起炎菌と成り得ることが確認され、その発症には菌種の組合せが重要であることが示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の御指導と御校閲を賜りました金沢大学医学部歯科口腔外科学講座 山本悦秀教授に深く感謝の意を表します。また、御助言、御校閲を戴きました本学微生物学講座 中村信一教授に厚く御礼申し上げます。更に、本研究遂行にあたり、御指導、御助言を戴きました金沢大学医学部歯科口腔外科学講座 中川清昌助教授ならびに標準菌株を提供していただきました塩野義製薬株式会社研究開発促進部諸兄に深謝いたします。最後に本研究を行うにあたり御協力頂きました当講座の諸先生方に深く感謝致します。

本論文の要旨の一部は、第38回日本口腔外科学会総会（1993年、新潟）において発表した。

## 文 献

- 1) Klainer, A. S. & Beisel, W. R.: Opportunistic infection: a review. *Amer. J. Med. Sci.*, **258**, 431-456 (1969).
- 2) Heimdahl, A., von Konow, L., Satoh, T. & Nord, C. E.: Clinical appearance of orofacial infections of odontogenic origin in relation to microbiological findings. *J. Clin. Microbiol.*, **22**, 299-302 (1985).
- 3) 中川清昌, 齋木康正, 岡部孝一, 山本悦秀: 口腔領域混合感染症の発生機序に関する検討. *日口外誌*, **39**, 1035-1042 (1993).
- 4) 石川梧朗, 秋吉正豊: 口腔病理学 I, 第3版, 365-475頁, 永末書店, 東京, 1983.
- 5) Bhaskar, S. N.: Synopsis of Oral Pathology, 5th ed., p73-79, Mosby Co., St Louis, 1977.
- 6) 高井 宏, 久野吉雄, 道 健一, 佐々木次郎: 歯性感染症に対する抗生物質の効果判定基準について. *歯薬療法*, **1**, 122-160 (1982).
- 7) Krieg, N. R. & Holt, J. G.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 1, 1st ed., p602-686, Williams & Wilkins, Baltimore, 1984.
- 8) Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E. & Holt, J. G.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 2, 1st ed., p999-1434, Williams & Wilkins, Baltimore, 1984.
- 9) Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C. & Winn, Jr. W. C.: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 4th ed., p1-673, J. B. Lippincott Co., Philadelphia, 1992.
- 10) Hiss, P. H.: A contribution to the physiological differentiation of *Pneumococcus* and *Streptococcus*. *J. Exp.*

*Med.*, **6**, 317-345 (1905).

- 11) 田中保知, 渡辺邦友, 島倉康彦, 坂東香お里, 武藤吉徳, 加藤直樹, 上野一恵: 化学療法剤評価法としての実験的マウス腹腔内膿瘍モデルの検討. *Chemotherapy*, **40**, 1224-1230 (1992).
- 12) Shapiro, M. E., Onderdonk, A. B., Kasper, D. L. & Finberg, R. W.: Cellular immunity to *Bacteroides fragilis* capsular polysaccharide. *J. Exp. Med.*, **154**, 1188-1197 (1982).
- 13) 口腔細菌学談話会: 歯学微生物学, 第5版, 3-429頁, 医歯薬出版, 東京, 1992.
- 14) Peterson, L. J.: Microbiology of Head & Neck Infections. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, **3**, 247-257 (1991).
- 15) Chow, A. W., Roser, S. M. & Brady, F. A.: Orofacial odontogenic infections. *Ann. Intern. Med.*, **88**, 392-402 (1978).
- 16) Finegold, S. M.: Anaerobes as Normal Flora. *Anaerobic Bacteria in Human Disease*, 1st ed, p26-34, Academic Press, New York, 1977.
- 17) Finegold, S. M., Georgie, W. L. & Mulligan, M. E.: Anaerobic infections Part I. *Dis. Mon.*, **31**, 1-77 (1986).
- 18) 上野一恵: 嫌気性菌感染症. *臨床科学*, **22**, 322-333 (1986).
- 19) Bartlett, J. G. & Finegold, S. M.: Anaerobic pleuropulmonary infection. *Medicine*, **51**, 431-450 (1972).
- 20) Bartlett, J. G., Gorbach, S. L., Tally, F. P. & Finegold, S. M.: Bacteriology and treatment of primary lung abscess. *Am. Rev. Res. Dis.*, **109**, 510-518 (1974).
- 21) Bartlett, J. G.: Anaerobic lower respiratory tract infections. *Scand. J. Infect. Dis.*, **26**, 118-122 (1981).
- 22) Gossling, J.: Occurrence and pathogenicity of the *Streptococcus milleri* group. *Rev. Infect. Dis.*, **10**, 257-285 (1988).
- 23) 齋木康正, 中川清昌, 熊谷茂宏, 山本悦秀: 顎口腔領域感染症の重症度別検出菌の検討. *日口外誌*, **40**, 501-508 (1994).
- 24) 松本和浩: 閉鎖性の歯槽膿瘍の細菌学的研究. *日口外誌*, **36**, 2016-2034 (1991).
- 25) Aderhold, L., Knothe, H. & Frenkel, G.: The bacteriology of dentogenous pyogenic infections. *Oral surg. Oral Med. Oral Pathol.*, **52**, 583-587 (1981).
- 26) von Konow, L., Nord, C. E. & Nordenram, A.: Anaerobic bacteria in dentoalveolar infections. *Int. J. Oral Surg.*, **10**, 313-322 (1981).
- 27) Labriola, J. D., Mascaro, J. & Alpert, B.: The microbiologic flora of orofacial abscesses. *J. Oral. Maxillofac. Surg.*, **41**, 711-714 (1983).
- 28) Lewis, M. A. O., MacFarlane, T. W., MacGowan, D. A. & MacDonald, D. G.: Assessment of the pathogenicity of bacterial species isolated from acute dentoalveolar abscesses. *J. Med. Microbiol.*, **27**, 109-116 (1988).
- 29) Brook, I.: Enhancement of growth of aerobic, anaerobic, and facultative bacteria in mixed infections with anaerobic and facultative gram-positive cocci. *J. Surg. Res.*, **45**, 222-227 (1988).

- 30) Lewis, M. A. O., MacFarlane, T. W. & MacGowan, D. A.: A microbiological and clinical review of the acute dentoalveolar abscess. Br. J. Oral. Maxillofac. Surg., 28, 359-366 (1990).
- 31) Lewis, M. A. O., MacFarlane, T. W. & MacGowan, D. A.: Quantitative bacteriology of acute dento-alveolar abscesses. J. Med. Microbiol., 21, 101-104 (1986).
- 32) Heimdahl, A., von Konow, L. & Nord, C. E.: Isolation of  $\beta$ -lactamase-producing *Bacteroides* strains associated with clinical failures with penicillin treatment of human orofacial infections. Archs. Oral. Biol., 25, 689-692 (1980).
- 33) 斎木康正, 中川清昌, 熊谷茂宏, 山本悦秀: リン酸クリンダマイシンとセフトラジム併用療法を施行し著効を示した急性歯性感染症の2例. 歯薬療法, 13, 16-21 (1994).
- 34) Sundqvist, G. K., Eckerbom, M. I., Larsson, A. P. & Sjogren, U. T.: Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. Infect. Immun., 25, 685-693 (1979).
- 35) 浅田光一, 落合正人, 中川洋一, 石橋克禮: 歯性感染症における検出菌の動態 第2法. 歯薬療法, 5, 152-156 (1986).
- 36) Oguntebi, B., Slee, A. M., Tanzer, J. M. & Langeland, K.: Predominant microflora associated with human dental periapical abscesses. J. Clin. Microbiol., 15, 964-966 (1982).
- 37) 宮内正幸, 石戸利貞, 加藤直樹, 渡辺邦友, 上野一恵: 嫌気性無芽胞グラム陰性桿菌の薬剤感受性分布およびその年次変遷. Chemotherapy, 37, 1229-1244 (1989).
- 38) Guthof, O.: Ueber pathogene "vergrunende Streptokokken", Streptokokken-Befunde bei dentogenen Abszessen und Infiltraten im Bereich der Mundhole. Zentbl. Bakt. Parasit. Infektkr. Hyg. Abt. 1, Orig., 166, 553-564 (1956).
- 39) Coykendall, A. L., Wesbecher, P. M. & Gustafson, K. B.: "*Streptococcus milleri*", *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus intermedius* are later synonyms of *Streptococcus anginosus*. Int. J. Syst. Bacteriol., 37, 222-228 (1987).
- 40) Whaley, R. A. & Beighton, D.: Emended descriptions and recognition of *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*, and *Streptococcus anginosus* as distinct species. Int. J. Syst. Bacteriol., 41, 1-5 (1991).
- 41) Poole, P. M. & Wilson, G.: Occurrence and cultural features of *Streptococcus milleri* in various body sites. J. Clin. Pathol., 32, 764-768 (1979).
- 42) Tresadern, J. C., Farrand, R. J. & Irving, N. H.: *Streptococcus milleri* and surgical sepsis. Ann. R. Coll. Surg. Engl., 65, 78-79 (1983).
- 43) 永田邦昭: 化膿性病巣より分離される *Streptococcus milleri* の重要性. 感染症誌, 64, 444-453 (1990).
- 44) 山城 哲, 草野展周, 重野芳輝, 斎藤 厚: 呼吸器感染症における *Streptococcus milleri* group の重要性に関する検討. 日臨徴誌, 1, 70-74 (1991).
- 45) 渡辺邦友: 嫌気性菌の病原性研究の細菌の動向. 日臨徴誌, 2, 40-46 (1992).
- 46) Onderdonk, A. B., Kasper, D. L., Cisneros, R. L. & Bartlett, J. G.: The capsular polysaccharide of *Bacteroides fragilis* as a virulence factor; comparison of the pathogenic potential of encapsulated strains. J. Infect. Dis., 136, 82-89 (1977).
- 47) Kasper, D. L., Onderdonk, A. B., Crabb, J. & Bartlett, J. B.: Protective efficacy of immunization with capsular antigen against experimental infection with *Bacteroides fragilis*. J. Infect. Dis., 140, 724-731 (1979).
- 48) Onderdonk, A. B., Shapiro, M. E., Finberg, R. W., Zalenski, D. F. & Kasper, D. L.: Use of a model of intraabdominal sepsis for studies of the pathogenicity of *Bacteroides fragilis*. J. Infect. Dis., 6, 91-95 (1984).
- 49) Crabb, J. H., Fiberg, R. W., Onderdonk, A. B. & Kasper, D. L.: T cell rgulation of *Bacteroides fragilis* induced Intra-abdominal abscesses. Rev. Infect. Dis., 12, 178-184 (1990).
- 50) 新里 敬, 山城 哲, 重野芳輝, 斎藤 厚, 仲宗根 勇, 草野展周, 外間政哲: *Streptococcus milleri* group 呼吸器感染症に及ぼす嫌気性菌の影響. 嫌気性菌感染症研究, 21, 47-52 (1991).
- 51) Brook, I. & Walker, R. I.: The role of encapsulation in the pathogenesis of anaerobic gram-positive cocci. Can. J. Microbiol., 31, 176-180 (1984).
- 52) 磯村公明: *Fusobacterium nucleatum* 由来の細菌性内毒素に関する研究. 日歯周誌, 27, 328-351 (1985).
- 53) 小崎正晴: *Fusobacterium nucleatum* のヒト由来細胞への付着. 広大歯誌, 19, 33-45 (1987).
- 54) Falkler, Jr. W. A., Smoot, C. N. & Mongiello, J. R.: Attachment of cell fragments of *Fusobacterium nucleatum* to oral epithelial cells, gingival fibroblasts and white blood cells. Arch. Oral. Biol., 27, 553-559 (1982).
- 55) Dehazya, P. & Coles, Jr. R. S.: Agglutination of human erythrocytes by *Fusobacterium nucleatum*: factors influencing hemagglutination and some characteristics of the agglutinin. J. Bacteriol., 143, 205-211 (1980).
- 56) 平塚浩一, 安孫子宜光, 早川光央, 吉田 渉, 滝口 久: 歯周病関連菌の共凝集と *Porphyromonas gingivalis* の自己凝集能について. 日大口腔科学, 17, 599-605 (1991).
- 57) Lancy, Jr., Dirienzo, J. M., Appelbaum, B., Rosan, B. & Holt, S. C.: Corn cob formation between *Fusobacterium nucleatum* and *Streptococcus sanguis*. Infect. Immun., 40, 303-309 (1983).
- 58) Kelstrup, J. & Funder-Nielse, T. D.: Aggregation of oral streptococci with *Fusobacterium* and *Actinomyces*. J. Biol. Buccale, 2, 347-362 (1972).
- 59) Mayrand, D. & McBride, B. C.: Ecological relationships of bacteria involved in a simple, mixed anaerobic infection. Infect. Immun., 27, 44-50 (1980).
- 60) van Steenberg, T. J. M., Kastelein, P., Touw, J. J. A. & de Graaff, J.: Virulence of black-pigmented *Bacteroides* strains from periodontal pockets and other sites in experimentally induced skin lesions in mice. J. Periodont. Res., 17, 41-49 (1982).



61) Weinstein, W. M., Onderdonk, A. B., Bartlett, J. G. & Gorbach, S. L.: Experimental intra-abdominal abscesses in rats: development of an experimental model. *Infect. Immun.*, 10, 1250-1255 (1974).

62) Onderdonk, A. B., Weinstein, W. M., Sullivan, N. M., Bartlett, J. G. & Gorbach, S. L.: Experimental intra-abdominal abscesses in rats: quantitative bacteriology of infected animals. *Infect. Immun.*, 10, 1256-1259 (1974).

**Clinico-Bacteriological Studies on Suppurative Infections of Oral and Maxillofacial Regions** Yasumasa Saiki, Department of Oral Surgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—*J. Juzen Med Soc.*, 103, 794—810 (1994)

**Key words** oral obstructive abscess, severity grade of infection, isolates, intraperitoneal inoculation, abscess formation

#### Abstract

In order to analyse the causative bacteria of suppurative orofacial infections, bacteria were isolated from the obstructive abscesses in orofacial regions and highly isolated bacteria were examined for their ability to produce abscesses in mice. A total of 110 obstructive abscess cases tested were divided into three groups by clinical severity; mild, 51; moderate, 35; and severe types, 24 cases. A total of 437 isolates were obtained; the numbers of aerobes and anaerobes was 148 (33.9%) and 289 (66.1%), respectively. Rates of anaerobes to the total isolates in mild, moderate or severe type were 57.1, 70.7, or 75.9%, respectively. Anaerobes were isolated in 99 cases (90.0%), and in 79 (71.8%) of the 99 cases aerobes were also isolated. Both gram-positive cocci and gram-negative rods were isolated in 84 cases (76.4%). Bacterial genera isolated with high frequencies were *Streptococcus* (78 strains), *Prevotella* (58 strains), *Fusobacterium* (54 strains) and *Peptostreptococcus* (49 strains); these bacterial genera represented 54.7% of all strains. These bacteria were also isolated with high frequencies in all three groups. For the studies of the abscess-forming ability in abdominal cavity of mice, these bacteria with high frequencies were tested; a reference strain and 3 clinical isolates of each species were used. All of *F. nucleatum* isolates and the clinical isolates of *S. constellatus* with capsule showed very strong abscess-forming ability in single strain infection experiments. The abscesses were not produced by intraperitoneal injection of *P. intermedia*. Moreover, when *F. nucleatum* and *S. constellatus* strains with capsule were concomitantly injected into mice, their abscess-forming abilities were strikingly enhanced. The synergistic effects were also found in some cases of mixed injections of *S. constellatus* strains and *P. intermedia* strains, but not in mixed injections of *F. nucleatum* and *P. intermedia* strains. Histologically the abscess examined consisted of three layers; the outer layer contained collagen and fibroblasts, the middle layer contained a lot of leukocytes, and core of the necrotic debris. These findings show that bacterial isolates with high frequency from suppurative orofacial infections were normal oral habitants and suggest that these isolates play an important role in the exacerbation of suppurative infections affecting the oral and maxillofacial regions, particularly when gram-positive cocci and anaerobic gram-negative rods are infected concomitantly.